

ALEXIA LETÍCIA PACHECO LINDOSO

Eficácia do probiótico comercial no cultivo do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) em sistema intensivo

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Walter Quadros Seiffert

Co-orientador: Felipe Nascimento Vieira

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Lindoso, Alexia Letícia Pacheco

Eficácia do probiótico comercial no cultivo do
camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) em
sistema intensivo / Alexia Letícia Pacheco Lindoso
; orientador, Walter Quadros Seiffert,
coorientador, Felipe Nascimento Vieira, 2017.
64 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias,
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura,
Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. *Bacillus* spp. 3. *Vibrio* spp.
4. Carcinicultura. I. Seiffert, Walter Quadros .
II. Vieira, Felipe Nascimento . III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação
em Aquicultura. IV. Título.

Eficácia do probiótico comercial no cultivo do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) em sistema intensivo

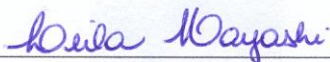
Por

ALEXIA LETÍCIA PACHECO LINDOSO

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

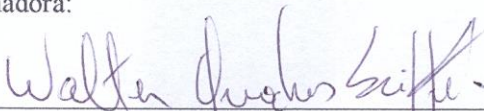
MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura.

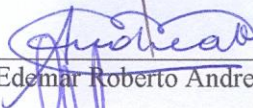


Profa. Leila Hayashi, Dra.
Coordenadora do Programa

Banca Examinadora:




Dr. Walter Quadros Seiffert – *Orientador*



Dr. Edemar Roberto Andreatta - UFSC

Dr. José Luiz Pedreira Mouriño - UFSC



Dra. Katt Regina Lapa - UFSC

AGRADECIMENTOS

A Deus pela dádiva da vida.

Ao meu pai, minha mãe Luzia e minha mãe Sebastiana que movem todo amor por mim.

A meu avô Pacheco e minha Tia Dilce que sempre acreditaram nos meus sonhos.

Ao LCM/UFSC, por tornar esse experimento possível, fornecendo toda estrutura necessária.

Ao Prof. Orientador Walter pela paciência, pelos ensinamentos, pelas inspirações, por ser meu mestre nesses últimos dois anos.

Ao Prof. Felipe pela oportunidade e co-orientação.

Aos funcionários Ison, Davi, Dimas, Diego, Carlos por todo apoio indispensável.

Ao Carlos biólogo pelo conhecimento prestado.

Aos meus colegas Esmeralda e Moisés pelas inúmeras vezes que me salvaram.

Aos meus companheiros de grupo Leonardo, Isabela e Ramon pela força.

A Talita pelas incansáveis análises de água.

A Claudinha pelos conselhos e ajudas.

A Déia pelos cafés que me acordavam.

As minhas colegas de turma, Vanessa, Jamilly, Susan e Emilia pelo companheirismo.

A Norha e Karol pelas análises microbiológicas.

E a todos que de alguma forma contribuíram para que isso fosse possível...

Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso ou pessoas fracassadas. O que existe são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem. (Augusto Cury, 2004)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do uso de probiótico (*Bacillus* spp.) como aditivo na água e como suplementação na dieta de *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema intensivo. Dois produtos foram utilizados durante o período experimental. O primeiro composto por cepas de *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* e *B. pumilus* e foi administrado por meio da adição na água a uma dose inicial de 1 g do produto por m³, seguido de doses semanais de 0,5 g m⁻³ ($2,0 \times 10^{11}$ UFC g⁻¹ *Bacillus* spp.). O segundo utilizado como suplemento alimentar, sendo adicionado na proporção de 0,33 g de probiótico kg⁻¹ de ração ($3,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹ *Bacillus* spp.). Para a realização do experimento foram utilizados 10 tanques circulares de 40 m³ (5 tanques controle e 5 tanques com tratamento). Inicialmente, a água nos tanques foi fertilizada e, após 18 dias, foi realizado o povoamento com camarões de 0,6g em uma densidade de 100 animais por m³. Foram realizadas análises semanais das variáveis de qualidade da água e biometrias para realização dos ajustes na quantidade de dieta a ser utilizada. Ao final do cultivo foram calculados os índices produtivos e realizadas análises microbiológicas da água e intestino dos camarões. Não foram encontradas diferenças significativas nas variáveis de qualidade de água e índices produtivos analisados. Também não foi possível observar diferenças nas concentrações de *Vibrio* spp. e bactérias heterotróficas (BHT) no tratamento e controle da água do cultivo. Nas condições experimentais utilizadas neste estudo, é possível concluir que a forma de administração dos probióticos durante o cultivo foi ineficaz na melhora da qualidade de água, desempenho produtivo e concentração de *Vibrio* spp.

Palavras-chave: Aquicultura, *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., Carcinicultura.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the efficiency of the use of probiotic (*Bacillus* spp.) As an additive in water and as a supplement in the diet of *Litopenaeus vannamei* cultivated in an intensive system. Two products were used during the experimental period. Two products were used during the experimental period. The first compound comprised strains of *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* and *B. pumilus* and was administered by addition in the water to an initial dose of 1g of the product per m³, followed by weekly doses of 0,5 g m⁻³ ($2,0 \times 10^{11}$ CFU g⁻¹ *Bacillus* spp.). The second one was used as a food supplement and was added in the proportion of 0,33 g of probiotic kg⁻¹ of feed ($3,0 \times 10^8$ CFU g⁻¹ *Bacillus* spp.). For the experiment, 10 circular tanks of 40 m³ (5 control tanks and 5 tanks with treatment) were used. Initially, the water in the tanks was fertilized and, after 18 days, the population with 0,6g shrimps was carried out at a density of 100 animals per m⁻³. Weekly analyzes of the variables of water quality and biometrics were carried out to make the adjustments in the quantity of diet to be used. At the end of the cultivation, the productive indexes were calculated and microbiological analyzes of the water and intestine of the shrimps were carried out. No significant differences were found in the variables of water quality and productive indexes analyzed. It wasn't also possible to observe differences in the concentrations of *Vibrio* spp. and heterotrophic bacteria (BHT) in the treatment and control of culture water. In the experimental conditions used in this study, it is possible to conclude that the administration of probiotics during cultivation was ineffective in improving water quality, productive performance and concentration of *Vibrio* spp.

Keywords: Aquaculture, *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., Shrimp farming.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Variação do pH (A) e alcalinidade (B) da água do cultivo intensivo de <i>L. vannamei</i> em densidade de 100 camarões m ⁻³ nos distintos tratamentos.	34
Figura 2 - Variação da amônia total (A), nitrito (B), nitrato (C) da água do cultivo intensivo de <i>L. vannamei</i> em densidade de 100 camarões m ⁻³ nos distintos tratamentos	35
Figura 3 - Variação da Clorofila α (A) e Disco de Secchi (B) da água do cultivo intensivo de <i>L. vannamei</i> em densidade de 100 camarões m ⁻³ nos distintos tratamentos	36
Figura 4 - Variação dos Sólidos Suspensos Totais (A) e Sólidos Suspensos Voláteis (B) da água do cultivo intensivo de <i>L. vannamei</i> em densidade de 100 camarões m ⁻³ nos distintos tratamentos.....	37
Figura 5 - Médias das concentrações de <i>Vibrio</i> spp. (A) e Bactérias Heterotróficas Totais (B) na água do cultivo de <i>L. vannamei</i> fertilizada com probiótico comercial (<i>Bacillus</i> spp.) nos distintos tratamentos	39
Figura 6 - Concentrações de <i>Vibrio</i> spp. (A) e Bactérias Heterotróficas Totais (B) no trato digestivo do <i>L. vannamei</i> alimentados com dieta suplementada com probiótico comercial (<i>Bacillus</i> spp.) nos distintos tratamentos. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa para teste de Tukey ($p < 0,05$).....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Levantamento de estudos realizados com a utilização de probióticos no cultivo de camarão-marinho	23
Tabela 2 - Descrição das variáveis físicas e químicas da qualidade de água do cultivo intensivo de <i>L. vannamei</i> em densidade de 100 camarões m ⁻³ nos distintos tratamentos	33
Tabela 3 - Variáveis dos índices produtivo do <i>L. vannamei</i> cultivado com probiótico comercial (<i>Bacillus</i> spp.) suplementado na ração e adicionado na água, nos distintos tratamentos. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa para teste Tukey ($p<0.05$)	38
Tabela 4 - Médias das concentrações de <i>Bacillus</i> spp. analisado e indicado pelo fabricante	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL:	19
1.1REVISÃO DE LITERATURA	19
1.1.1Carcinicultura E Seus Desafios	19
1.1.2Doenças na Carcinicultura.....	19
1.1.3Estratégias de Biossegurança: Sistemas Fechado.....	21
1.1.4Utilização de Probiótico	21
1.2JUSTIFICATIVA.....	24
1.3OBJETIVOS.....	24
1.3.1Objetivo Geral	24
1,3.2Objetivos Específicos	24
1.4 FORMATAÇÃO DO ARTIGO	24
2ARTIGO CIENTÍFICO	25
Eficiência do uso de Bacillus spp. como probiótico e biorremediador no cultivo do camarão-branco-do-pacífico (Litopenaeus vannamei) em sistema intensivo	25
Resumo.....	25
Abstract	25
Introdução	25
Material e Métodos	29
<i>Probiótico e Preparo da Dieta</i>	29
<i>Condições Experimentais</i>	29
<i>Variáveis de Qualidade de Água</i>	30
<i>Índices produtivos</i>	31
<i>Análise da Microbiota do Trato Intestinal e Água do cultivo</i>	31
<i>Análise Estatística</i>	32
Resultados	32
<i>Variáveis De Qualidade De Água</i>	32
<i>Análise Microbiológica da Água e do Trato Digestivo</i>	38
Discussão	40
<i>Variáveis De Qualidade De Água</i>	41
<i>Índices produtivos</i>	32
<i>Contagem Microbiota</i>	43
Conclusão	45
Referências	45
3CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
4REFERÊNCIAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	57

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Carcinicultura e seus desafios

Para atender a crescente demanda de pescados, a produção mundial da aquicultura se expandiu rapidamente. Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO, a aquicultura é um segmento de produção de alimentos de origem animal com maior crescimento. Em 2014 a produção mundial oriunda da aquicultura foi de 93.698.213 toneladas. O Brasil teve significativo crescimento na aquicultura, contribuindo com 574.164 toneladas (FAO, 2016).

A produção brasileira de camarão marinho em 2014 representou 69.859 toneladas, um acréscimo de 7,45% em relação ao ano anterior (FAO, 2016). O cultivo de camarão marinho, denominado, carcinicultura, tem forte expressão na produção global, sendo uma fonte de proteína e de alto valor comercial (BOYD e MCNEVIN, 2015).

No Brasil, após anos de estudos do ciclo de vida dos camarões marinhos nativos de valor no mercado, a fase comercial da carcinicultura só obteve destaque a parti de 1990 com a espécie exótica *Litopenaeus vannamei*, sendo também a espécie mais cultivada no mundo (SANTOS, 2009).

A rápida expansão dessa cadeia produtiva no Brasil e mundo não foram acompanhados com medidas que reduzissem os impactos ambientais causados pelos sistemas tradicionais de produção (SAMOCHA et al, 2007). Este fato levou a atividade da carcinicultura ser alvo de críticas por danos causados aos ecossistemas costeiros, geração de cargas de efluentes, disseminação de patógenos (NAYLOR et al, 2000; BOYD, 2003).

1.1.2 Doenças na Carcinicultura

Das enfermidades que mais acometem prejuízo no cultivo do camarão marinho, se destacam a síndrome da mancha branca (WSSV - *White Spot Syndrome Virus*) e síndrome da infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHHNV) (LIGHTNER et al., 2012a; LIGHTNER et al., 2012b). Recentemente, uma nova doença emergente conhecida como síndrome de mortalidade precoce (EMS) foi denominada doença de necrose hepatopancreática aguda (AHPND),

afetando camarões da espécie *Penaeus vannamei*, *P. monodon* e *P. chinensis* (NACA, 2012; FAO, 2013). Esta nova enfermidade ocasiona altas mortalidades, com perdas totais nos primeiros 30 dias de cultivo e impactos econômicos significativos que representam mais de um bilhão de US\$ (TRAN et al., 2013; ALLIANCE, 2014).

A etiologia da AHPND era desconhecida, mas em seguida foi identificada como causada por uma cepa de *Vibrio parahaemolyticus* (FAO, 2013). Assim, as bactérias do gênero *Vibrio* se destacam como sendo agentes patogênicos importantes no cultivo de camarão-marinho, como já descrito por PASHARAWIPAS et al., (2005) e BONDAD-REANTASO et al., (2005).

Diversas espécies de vibrios já foram reportadas como patogências para camarão-marinho como *Vibrio dansela* (SONG; CHENG; WANG, 1993), *Vibrio harveyi* (PASHARAWIPAS et al., 2005), *Vibrio nigripulchritudo* (GOARANT et al., 2006), *Vibrio orientalis* (ABRAHAM; PALANIAPPAN, 2004), *Vibrio alginolyticus* (VANDENBERGHE, 1998), *Vibrio furnissii* (SUNG et al., 1999). A vibriose, quando presente na carcinicultura, pode ocasionar nos camarões anorexia, inatividade, baixa taxa de crescimento e, em casos mais graves, necrose muscular (CHIU et al., 2007).

De acordo com Lightner et al., (2006) a falta de tratamento de água, altas densidades, mortalidade e o aumento da oferta de ração no cultivo podem alterar a microbiota do ambiente, e favorecer a proliferação de microrganismos oportunistas. A presença do vibrio juntamente com alterações ambientais, causando estresse, pode favorecer o aparecimento de infecções, afetando órgãos e tecidos dos camarões (LAVILLA-PITOGO; LEAÑO; PANER, 1998; AGUIRRE & ASCENCIO, 2000).

Na maioria dos sistemas de aquicultura, a entrada de água é a via comum de introdução de patógenos. As densidades elevadas ocasionam condições inadequadas, estimulando surgimento de doenças no meio de cultivo (LOTZ e LIGHTNER, 1999; BIAO et al., 2004).

Com isso, faz-se necessário o desenvolvimento de sistemas de cultivo biosseguros e com aplicação de um rigoroso controle de prevenção de doenças para o avanço da carcinicultura (MOSS et al., 1998).

1.1.3 Estratégias de biosseguridade: sistemas fechados

Estudos têm sido realizados para desenvolver novos métodos de cultivo que visam à produção de camarão em ambiente fechado (BROWDY e MOSS, 2005). Dentre estes, o sistema de cultivo em bioflocos (BFT) se destaca por ser realizado com troca zero de água e com alto nível de biosseguridade (CARVALHO, 2011).

No bioflocos, a relação carbono nitrogênio (CN) é alterada mediante inoculação de uma fonte externa de carbono. Desta forma ocorre o estímulo ao desenvolvimento de bactérias heterotróficas que ficam aderidas aos flocos (BURFORD et al., 2004). Com isso, é possível complementar a alimentação dietética dos animais cultivados com a produção natural (MOSS, 2002; DECAMP et al., 2002).

De acordo com Jory (2001) e Tacon et al., (2002) o floco bacteriano contém altos níveis de proteína e outros fatores importantes que complementam a nutrição animal. Essa comunidade microbiana da tecnologia bioflocos, também é responsável por manter a qualidade da água e melhorar as taxas de crescimento, sobrevivência (MCINTOSH et al., 2001; WASIELESKY et al., 2006; AVNIMELECH, 2007), bem como inibir a proliferação de agentes patogênicos por exclusão competitiva na água ou no intestino (CRAB et al., 2010).

Além disso, os flocos do BFT beneficiam o sistema imune dos camarões (HSIEH et al., 2007). Isto se deve ao fato de que, essas comunidades de bactérias podem produzir carotenóides, retinóides, poli-p-hidroxibutirato e exoenzimas que protegem o sistema imune dos camarões cultivados (DEFOIRDT et al., 2007; NHAN et al., 2010).

No entanto, não são todas as espécies de microrganismos presentes nos flocos que são benéficas ao camarão (LUIS-VILLASENOR et al., 2013), podendo também ocorrer no sistema BFT a presença de vibrios patogênicos (SCHULZE et al., 2006). Desta forma, a questão é se esse sistema pode ou não ser controlado mediante a introdução de probióticos (SAPCHAROEN e RENGPIPAT, 2013).

1.1.4 Utilização de Probiótico

O uso indiscriminado de antibióticos na aquicultura pode levar a problemas de degradações ambientais (BACHÉRE, 2000) e o surgimento de bactérias resistentes (MORIARTY, 1997; BALCÁZAR et al., 2007; KESARCODI et al., 2008; ALLAMEH et al., 2015). Uma alternativa ao uso de antibiótico é a utilização de produtos probióticos

(MORIARTY, 1998; SZE, 2000), que podem ajudar, através da competição por nutrientes e atividade predatória ao combate e controle de microrganismos patogênicos (DECAMP et al, 2002; VINE et al., 2006).Verschuere et al., (2000) conceituam probiótico como sendo “*Suplemento microbiano vivo com efeitos benéficos para o hospedeiro, tanto pela modificação de sua comunidade microbiana associada, como para o ambiente de cultivo, assegurando melhoria no uso do alimento artificial e de seu valor nutricional, melhorando a resposta do hospedeiro a doenças e também a qualidade do ambiente.*”

Uma variedade de cepas probióticas como *Aeromonas hydrophila* (IRIANTO & AUSTIN 2002), *Bacillus subtilis* (VASEEHARAN & RAMASAMY, 2003), *Enterococcus faecium* (CHANG & LIU, 2002), *Lactobacillus plantarum* (VIEIRA et al., JATOBÁ et al., 2008), *L. rhamnosus* (NIKOSKELAINEN et al., 2001) *Pseudomonas fluorescens* (GRAM et al., 1999), *V. alginolyticus* (AUSTIN et al., 1995; BALCÁZAR et al., 2007), têm sido consideradas para uso na aquicultura.

Os probióticos podem ser administrados como um suplemento alimentar ou como aditivo para a água (MORIARTY, 1998; KUMAR et al., 2016). Como suplemento atua modificando a microbiota intestinal, permitindo a colonização de bactérias benéficas, impedindo a colonização por bactérias patogênicas no intestino do animal, desta forma podem disponibilizar nutrientes, aumentando sua absorção e conseqüentemente o crescimento dos animais cultivados (LIU et al., 2009). Quando adicionados na água pode promover a melhoria da qualidade da água (GATESOUBE, 1999) e diminuir a presença de *Vibrio* no cultivo (SILVA et al., 2013).

Vários trabalhos já demonstraram os efeitos do uso de probióticos na carcinicultura (Tabela 1).

No entanto, são necessárias maiores informações no que tange a adequação do uso de probióticos nos distintos sistemas de cultivo, bem como espécies de peneídeos utilizadas (DEVARAJA, YUSOFF; SHARIFF, 2002). Para isto, estudos devem ser direcionados na avaliação do seu emprego no cultivo relacionado ao tipo de cepa utilizada, concentração e forma de administração (HUISINTVELD et al., 1994).

Sendo assim, para um melhor entendimento dos efeitos das bactérias probióticas, torna-se essencial avaliar seu potencial de uso combinado, tanto na ração, como na água seguindo recomendações do fabricante em diferentes condições de cultivo.

Tabela 1. Levantamento de estudos realizados com a utilização de probióticos no cultivo de camarão-marinho.

AUTOR/ ANO	CONDIÇÃO			RESULTADOS
	Cepas	Via	Cultivo	
SAMOCHA <i>et al.</i> , 1998	<i>Bacillus</i> spp. e <i>B. Licheniformis</i>	Água	Super-intensivo <i>Penaeus Setiferus</i>	Não obteve melhoria no desempenho zootécnico
RENGPIPAT <i>et al.</i> , 1998	<i>Bacillus</i> spp.	Água	Berçário <i>Penaeus monodon</i>	Colonização do intestino e aumento na sobrevivência
MCINTOSH, 2000	<i>Bacillus</i> spp. e <i>B. Licheniformis</i>	Água	Super-intensivo <i>L. vannamei</i>	Não obteve melhoria no desempenho e microbiologia da água.
GULLIAN <i>et al.</i> , 2004	<i>Bacillus</i> spp.	Ração	Engorda <i>L. vannamei</i>	Melhora da microbiota intestinal
EL-SERSY <i>et al.</i> , 2006	<i>Bacillus pumilus</i> e <i>Vibrio fluvialis</i>	Água	Larvicultura de <i>Marsupenaeus japonicus</i>	Melhor sobrevivência
ZIAEI-NEJAD, 2006	<i>Bacillus</i> spp.	Água	Larvicultura de <i>F. indicus</i>	Melhor desempenho e sobrevivência
WANG <i>et al.</i> , 2007	<i>Bacillus</i> spp.	Água	Larvicultura de <i>L. vannamei</i>	Melhor desempenho
LI <i>et al.</i> , 2007	<i>Bacillus licheniformis</i>	Ração	<i>L. vannamei</i>	Melhora da microbiota intestinal
DECAMP <i>et al.</i> , 2008	<i>Bacillus</i> spp.	Ração	Larvicultura de <i>L. vannamei</i>	Melhor taxa de sobrevivência e inibição de cepas de vibrio
VITA, 2008	<i>Bacillus</i> spp.	Água	Super-intensivo de <i>L. vannamei</i>	Não obteve melhoria no desempenho e contagem de vibrios.
LI <i>et al.</i> , 2009	<i>Bacillus</i> spp.	Ração	<i>L. vannamei</i>	Melhora da microbiota intestinal
ZHOU <i>et al.</i> , 2009	<i>Bacillus coagulans</i>	Água	Larvicultura de <i>L. vannamei</i>	Melhor sobrevivência
LIU <i>et al.</i> , 2009	<i>B. subtilis</i>	Ração	Berçário de <i>L. vannamei</i>	Melhor crescimento
FAR <i>et al.</i> , 2009	<i>B. subtilis</i>	Água	<i>L. vannamei</i>	Aumento no crescimento e sobrevivência
NIMRAT <i>et al.</i> , 2011	<i>Bacillus</i> spp.	Água	Larvicultura de <i>L. vannamei</i> .	Melhor taxa de sobrevivência e crescimento.
SILVA <i>et al.</i> , 2011	<i>Bacillus</i> spp.	Água	Larvicultura de <i>L. vannamei</i> .	Não influenciou no desempenho e melhorou contagem de <i>Vibrio</i> spp.
CHAI <i>et al.</i> , 2016	<i>Bacillus</i> spp.	Ração	Berçário de <i>L. vannamei</i>	Melhor sobrevivência e crescimento

1.2 JUSTIFICATIVA

A carcinicultura mundial vem desenvolvendo novos modelos de cultivo que maximizem seus resultados econômicos com menor degradação ambiental. Dentre estes modelos, o cultivo em sistema fechado se destaca por possibilitar produção em altas densidades, mínima troca de água e maior biossegurança. Nesses sistemas, a intensificação do cultivo, elevada aeração e não renovação de água, contribuem para formações de colônias bactérias tanto benéficas, quanto patogênicas, podendo a adição de probióticos contribuir na melhoria do desempenho zootécnico e imunológico do camarão marinho cultivado, além de auxiliar na manutenção e qualidade da água.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho produtivo do camarão-branco-do-pacífico cultivado em sistema intensivo com uso de probiótico comercial na dieta e na água do cultivo.

1.3.2 Objetivos específicos

- Analisar o efeito do probiótico comercial sobre os parâmetros zootécnicos, sobrevivência, ganho de peso e conversão alimentar do camarão-branco-do-pacífico cultivado com probiótico comercial na dieta.
- Caracterizar os parâmetros físicos e químicos da qualidade da água do cultivo intensivo do camarão-branco-do-pacífico com uso de probiótico.
- Avaliar os efeitos do probiótico sobre a concentração de bactérias *Vibrio* spp e Bactérias Heterotróficas Totais no intestino dos camarões e na água do cultivo.

1.4 FORMATAÇÃO DO ARTIGO

O artigo original desta dissertação está formatado segundo normas do Boletim do Instituto de Pesca (BIP).

2. ARTIGO CIENTÍFICO

Eficiência do uso de *Bacillus* spp. no cultivo do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) em sistema intensivo

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do uso de probiótico (*Bacillus* spp.) como aditivo na água e como suplementação na dieta de *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema intensivo. Dois produtos foram utilizados durante o período experimental. O primeiro composto por cepas de *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* e *B. pumilus* e foi administrado por meio da adição na água a uma dose inicial de 1 g do produto por m³, seguido de doses semanais de 0,5 g m⁻³ ($2,0 \times 10^5$ UFC mL⁻¹ *Bacillus* spp.). O segundo utilizado como suplemento alimentar, sendo adicionado na proporção de 0,33 g de probiótico kg⁻¹ de ração ($3,0 \times 10^8$ UFC g⁻¹ *Bacillus* spp.). Para a realização do experimento foram utilizados 10 tanques circulares de 40 m³ (5 tanques controle e 5 tanques com tratamento). Inicialmente, a água nos tanques foi fertilizada e, após 18 dias, foi realizado o povoamento com camarões de 0,6g em uma densidade de 100 animais por m⁻³. Foram realizadas análises semanais das variáveis de qualidade da água e biometrias para realização dos ajustes na quantidade de dieta a ser utilizada. Ao final do cultivo foram calculados os índices produtivos e realizadas análises microbiológicas da água e intestino dos camarões. Não foram encontradas diferenças significativas nas variáveis de qualidade de água e índices produtivos analisados. Também não foi possível observar diferenças nas concentrações de *Vibrio* spp. e Bactérias Heterotróficas Totais (BHT) no tratamento e controle da água do cultivo. Nas condições experimentais utilizadas neste estudo, é possível concluir que a forma de administração dos probióticos durante o cultivo foi ineficaz na melhora da qualidade de água, desempenho produtivo e concentração de *Vibrio* spp.

Palavras-chave: Aquicultura, *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., Carcinicultura.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the efficiency of the use of probiotic (*Bacillus* spp.) As an additive in water and as a supplement in the diet of *Litopenaeus vannamei* cultivated in an intensive system. Two products were used during the experimental period. Two products were used during the experimental period. The first compound comprised strains of *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* and *B. pumilus* and was administered by addition in the water to an initial dose of 1g of the product per m³, followed by weekly doses of 0,5 g m⁻³ ($2,0 \times 10^5$ CFU mL⁻¹ *Bacillus* spp.). The second one was used as a food supplement and was added in the proportion of 0,33 g of probiotic kg⁻¹ of feed ($3,0 \times 10^8$ CFU g⁻¹ *Bacillus* spp.). For the experiment, 10 circular tanks of 40 m³ (5 control tanks and 5 tanks with treatment) were used. Initially, the water in the tanks was fertilized and, after 18 days, the population with 0,6g shrimps was carried out at a density of 100 animals per m⁻³. Weekly analyzes of the variables of water quality and biometrics were carried out to make the adjustments in the quantity of diet to be used. At the end of the cultivation, the productive indexes were calculated and microbiological analyzes of the water and intestine of the shrimps were carried out. No significant differences were found in the variables of water quality and productive indexes analyzed. It wasn't also possible to observe differences in the concentrations of *Vibrio* spp. and heterotrophic bacteria (BHT) in the treatment and control of culture water. In the experimental conditions used in this study, it is possible to conclude that the administration of probiotics during cultivation was ineffective in improving water quality, productive performance and concentration of *Vibrio* spp.

Keywords: Aquaculture, *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., Shrimp farming.

Introdução

A carcinicultura mundial vem enfrentando problemas ocasionados por doenças que dizimam a produção, causando significativas perdas econômicas (BRIGGS *et al.*, 2005; LIGHTNER, 2005). Das enfermidades que mais acometem prejuízo no cultivo do camarão marinho, se destacam a síndrome da mancha branca (WSSV - *White Spot Syndrome Virus*) e a síndrome da necrose hipodermal e hematopoiética infecciosa (IHHNV) (LIGHTNER *et al.*, 2012a; LIGHTNER *et al.*, 2012b). Recentemente uma nova doença conhecida como síndrome de mortalidade precoce (EMS), denominada doença de necrose hepatopancreática aguda (AHPND), afetando camarões da espécie *Penaeus vannamei*, *P. monodon* e *P. chinensis* (NACA, 2012; FAO, 2013). Esta nova enfermidade de origem bacteriana vem ocasionando altas mortalidades, com perdas totais nos primeiros 30 dias de cultivo e impactos econômicos significativos que representam mais de um bilhão de US\$ (TRAN *et al.*, 2013; ALLIANCE, 2014). A AHPND consolida a importância das bactérias do gênero *Vibrio* como agentes patogênicos importantes no cultivo de camarão-marinho, como já descrito por Pasharawipas *et al.* (2005) e Bondad-Reantaso *et al.* (2005).

De acordo com Lightner *et al.* (2006) a falta de tratamento de água, altas densidades, mortalidade e o aumento da oferta de ração no cultivo podem alterar a microbiota do ambiente e favorecer a proliferação de microrganismos oportunistas. A presença do vibrio juntamente com alterações ambientais, causando estresse, pode favorecer o aparecimento de infecções, afetando órgãos e tecidos dos camarões (LAVILLA-PITOGO; LEAÑO; PANER, 1998; AGUIRRE e ASCENCIO, 2000).

Estudos têm sido realizados para desenvolver novos métodos de cultivo que visam à produção de camarão em ambiente fechado (BROWDY e MOSS, 2005). Dentre estes, o sistema de cultivo em bioflocos (BFT) se destaca por ser realizado com troca zero de água e com alto nível de biossegurança (CARVALHO, 2010).

Neste sistema, a relação carbono nitrogênio (CN) é alterada mediante inoculação de uma fonte externa de carbono. Desta forma ocorre o estímulo ao desenvolvimento de bactérias heterotróficas que ficam aderidas aos flocos (BURFORD *et al.*, 2004). Essa comunidade microbiana da tecnologia bioflocos, também é responsável por manter a qualidade da água e melhorar as taxas de crescimento, sobrevivência (MCINTOSH *et al.*, 2000; WASIELESKY *et al.*, 2006;

AVNIMELECH, 2007) e inibir a proliferação de agentes patogênicos por exclusão competitiva na água ou no intestino (CRAB *et al.*, 2010).

No entanto, não são todas as espécies de microrganismos presentes nos focos que são benéficas ao camarão (LUIS-VILLASENOR *et al.*, 2013) podendo também ocorrer no sistema BFT a presença de vibrios patogênicos (SCHULZE *et al.*, 2006).

O uso indiscriminado de antibióticos na aquicultura para combater patógenos pode acarretar em problemas de degradações ambientais (BACHÉRE, 2000) e o surgimento de bactérias resistentes (MORIARTY, 1997; BALCÁZAR *et al.*, 2007; KESARCODI *et al.*, 2008; ALLAMEH *et al.*, 2015). Uma alternativa ao uso de antibiótico é a utilização de produtos probióticos (MORIARTY, 1998; SZE, 2000), que podem ajudar, através da competição por nutrientes e atividade predatória, o combate e controle de microrganismos patogênicos (DECAMP *et al.*, 2002; VINE *et al.*, 2006).

Os probióticos podem ser administrados como um suplemento alimentar ou como aditivo para a água (MORIARTY, 1998; KUMAR *et al.*, 2016). Como suplemento atua modificando a microbiota intestinal, permitindo a colonização de bactérias benéficas que impedem a colonização por bactérias patogênicas no intestino do hospedeiro, gerando melhoria na saúde do animal (GÓMEZ-GIL *et al.*, 2002) e disponibilizando nutrientes e conseqüentemente o crescimento dos animais cultivados (LIU *et al.*, 2009). Quando adicionados na água, como biorremediador, pode promover a qualidade da água (GATESOUBE, 1999) e diminuir a presença de *Vibrio* no cultivo (SILVA *et al.*, 2013).

Uma variedade de cepas probióticas tem sido considerada como uso na aquicultura, dentre elas as do gênero *Bacillus* se destaca por produzir, no processo de esporulação, antibióticos (MADIGAN *et al.*, 2000) e por sua facilidade a inclusão em dietas e produtos comerciais (OCHOA-SOLANO *et al.*, 2006). Vários trabalhos já demonstraram os efeitos positivos do uso de probiótico na carcinicultura (RENGPIPAT *et al.*, 1998; LI *et al.*, 2009), quanto a digestibilidade (LIN *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2009; ZHOU *et al.*, 2009;), a taxa de crescimento (FAR *et al.*, 2009), imunestimulação (GULLIAN *et al.*, 2004; CHIU *et al.*, 2007) e resistência a infecção por patógenos bacterianos (RENGPIPAT *et al.*, 2000). No entanto, também foram relatados estudos sem efeitos esperados com uso de probióticos (MCINTOSH *et al.*, 2000; MEUNPOL *et al.*, 2003; ALAVANDI *et al.*, 2004).

Contudo, em condições adversas a que foram desenvolvidos, os produtos microbianos podem apresentar problemas quanto ao comportamento frente às cepas locais competitivas. Para isso, são necessários estudos que comprovem a eficácia destes produtos em diferentes condições (DEVARAJA, YUSOFF e SHARIFF, 2002).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia do uso de probiótico *Bacillus* spp. quanto aos parâmetros zootécnicos, qualidade físico-química da água e concentração de *Vibrios* no cultivo intensivo do camarão-branco-do-pacífico.

Material e métodos

Os camarões da espécie *Litopenaeus vannamei*, foram adquiridos na fase de náuplios, linhagem SPEEDLINE HB12, da empresa Aquatec Ltda. Os animais foram mantidos na larvicultura até atingirem a idade pós-larvas 30. Em seguida, transferidos aos pré-berçários do laboratório onde foram cultivados até atingirem o tamanho 0,6g, necessário a realização do experimento.

Probiótico e Preparo da dieta

Foram utilizados dois probióticos de uma linha comercial, um aplicado na água com função bioremediadora e o segundo adicionado na ração. Os produtos probióticos utilizados eram compostos por cepas liofilizadas de *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* e *B. pumilus* e foi administrado 0,33 g de probiótico a cada kg de ração. Para aplicação, seguiu-se a recomendação do fabricante. Para isto, 1g de probiótico foi diluído em 100 mL de óleo de peixe e misturado de forma homogênea a cada 3 kg de ração. Na ração do tratamento controle foi adicionada a mesma quantidade de óleo de peixe.

Condições experimentais

As unidades experimentais consistiram em tanques de fibra de vidro circular com 50m³. Inicialmente, os tanques foram cheios com 20 m³ de água 33 ppm e fertilizados para estimular a produção de microalgas no sistema autotrófico. Após sete dias, o volume do tanque foi completado e fertilizado novamente. Após 18 dias da segunda fertilização, foi feita a aplicação de 1g de probiótico por m⁻³ (2×10^5 UFC mL⁻¹) e realizado o povoamento com camarões na densidade de 100 animais por m⁻³ (40.000 animais tanque⁻¹). Foram utilizados cinco

tanques para o tratamento com probiótico (água e ração) e cinco tanques como controle. Após o povoamento, o probiótico foi reaplicado semanalmente na dose de $0,5\text{g m}^{-3}$ diluído diretamente na água do tanque.

O experimento foi conduzido por 56 dias. Os camarões foram alimentados (Ração Poti mirim 35% PB) quatro vezes ao dia (8h, 12h, 14h, 17h). Semanalmente foi realizada a biometria para ajuste da quantidade de ração fornecida de acordo com a metodologia sugerida por Van-Wyk (1999).

Para regular a concentração de amônia foi feita fertilização com uma quantidade de carboidrato necessário para neutralizar a amônia excretada pelo camarão, sendo estimado que o camarão assimile cerca de 30% do nitrogênio adicionado na alimentação e 75% deste nitrogênio é transformado em amônia dissolvida na água. O açúcar branco foi adicionado a cada tanque a uma proporção de 20 g de carboidrato por cada grama de amônia dissolvido (AVNIMELECH, 1999). Ao decorrer do experimento quando a amônia ultrapassou 1mg L^{-1} foi adicionado açúcar, considerando a mesma relação.

Para manter a alcalinidade no nível recomendado, de 130mg L^{-1} , foi adicionado 20 a 25% da ração consumida no dia em quantitativo de hidróxido de cálcio.

Durante o período experimental, não foi realizada a renovação de água, sendo apenas repostos o volume perdido por evaporação e retirada do lodo. De acordo com análises de sólidos, os tanques que apresentavam sólidos suspensos totais (SST) $> 400\text{mg L}^{-1}$ tinham o sedimentador individual ligado (RAY *et al.*, 2010; RAY, *et al.*, 2011, SCHVEITZER *et al.*, 2013b; EMERENCIANO *et al.*, 2012). Para avaliar a quantidade de lodo total retirada do sistema durante o período experimental era calculado seguindo a formula:

$$\text{Lodo produzido (g)} = (\text{SST}_{\text{final}} * \text{V}) - (\text{SST}_{\text{inicial}} * \text{V}) \div 1000 + \text{SR}$$

Onde, $\text{SST}_{\text{final}}$ é concentração de Sólidos Suspensos Totais em mg L^{-1} no final do cultivo. $\text{SST}_{\text{inicial}}$ é a concentração de Sólidos Suspensos Totais em mg L^{-1} no início do cultivo. V é o volume do tanque em litros. SR é a quantidade de sólidos retirados do sistema em gramas (g).

Variáveis de qualidade de água

Diariamente foram monitorados o oxigênio dissolvido e temperatura da água (Oxímetro YSI Pro20). Quatro vezes por semana

eram feitas as leituras do disco de Secchi. Duas vezes por semana foram medidas as concentrações de Amônia (STRICKLAND E PARSON, 1972), Alcalinidade (APHA 2005) (2320B), pH (Phmetro thermo scientific Orion Star A211) e salinidade (Salinômetro digital Eco Sense EC300A) e uma vez por semana eram analisadas o nitrito, nitrato (Kit comercial Hach ACA01), ortofosfato (AMINOT E CHAUSSEPIED, 1983), clorofila (APHA 2005)(10200 H), sólidos suspensos totais e voláteis (APHA 2005) (2540D).

Índices produtivos

No final do experimento, foram avaliados os seguintes parâmetros zootécnicos:

Número de animais = Biomassa final (g)/média (g)

Sobrevivência (%) = Número final de animais sobreviventes / Número de animais povoados * 100

Fator de conversão alimentar aparente (FCA) = Total ração ofertada (g)/incremento de biomassa (g)

Produtividade (kg m⁻³) = biomassa final (kg)/volume tanque (m³)

Crescimento Semanal (g) = Biomassa final (g)/semanas de cultivo

Análise microbiológica do trato digestivo, água do cultivo, ração e produtos

No final do cultivo foram retiradas amostras do trato intestinal de 20 camarões por tratamento (quatro *pools*). O trato intestinal foi homogeneizado em um grau diluído serialmente (1/10) em solução salina estéril 3% (SSE) e semeados em meio de cultura Agar marine e Agar tiossulfato citrato bile sacarose (TCBS), para contagem de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp., respectivamente. Os intestinos semeados nas placas de Petri foram incubados em estufa em temperatura de 30°C. Após 24 horas de incubação foram feitas as contagens totais de Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

As amostras de água foram serialmente diluídas (1/10) em solução salina estéril 3% (SSE) e semeados em meio de cultura Agar Marinho e TCBS para contagem de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp. totais, respectivamente. As amostras foram incubadas em estufa a 30°C por 24 h, sendo posteriormente efetuadas contagens totais de UFC.

Também foram realizadas análises da concentração de *Bacillus* spp. dos produtos probióticos da água e da dieta utilizado no

experimento, assim como a concentração após adicionado na ração. As amostras foram serialmente diluídas (1/10) em SSE 3% e semeados em meio de cultura TSA 3% para contagem de *Bacillus* spp. Em seguida, foram incubadas em estufa a 30° por 24h e efetuado a contagem totais de UFC.

Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o programa Statistica 13.0. Todos os dados obtidos no experimento foram submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias (Bartlett) e normalidade (Shapiro-wilk).

As variáveis de qualidade de água foram avaliadas através da ANOVA unifatorial com medidas repetidas no tempo. Os dados zootécnicos foram analisados usando o teste T.

Os valores das contagens bacterianas para obter normalidade foram transformados para (\log_{x+1}) e posteriormente analisados usando o teste T para comparação estatística. Todas as análises foram realizadas dentro do nível de significância $p>0,05$.

Resultados

Variáveis de Qualidade de Água

Não houve diferença significativa entre tratamentos em nenhum dos parâmetros avaliados (Tabela 2) (Figura 1).

A temperatura (25,2 °C), o oxigênio dissolvido (6,3 mg L⁻¹) e salinidade (32 g L⁻¹) foram iguais para tratamento e controle.

A concentração de amônia total foi semelhante para ambos os tratamentos com diferenças na interação semanal com pico na 5ª semana no tratamento probiótico (Figura 2A). O nitrito não apresentou diferença entre os tratamentos e teve incremento na última semana de cultivo (Figura 2B). O nitrato apresentou o mesmo comportamento (Figura 2C). O fósforo aumentou ao longo do cultivo, sem diferença entre tratamento e controle (Figura 2D). As análises da concentração de clorofila α (31,0 \pm 3,52µg L⁻¹) e Disco de Secchi (32,1 \pm 2,78cm) não diferiram entre os tratamentos (Figura 3).

Os sólidos suspensos totais (294,9 \pm 14,43mg L⁻¹) foram estatisticamente iguais, apresentando acúmulo ao longo do cultivo, com diminuição na 5ª e 6ª semana e aumento nas duas últimas, destacando o tratamento probiótico com maior concentração (> 400mg L⁻¹) no final do cultivo (Figura 4A). Não houve diferenças nos sólidos voláteis

($109,5 \pm 5,63 \text{ mg L}^{-1}$) apresentando maiores concentrações nas últimas semanas (Figura 4B). A quantidade de lodo produzido pelo sistema durante o experimento no tratamento com probiótico ($5200 \pm 1300 \text{ g}$) e controle ($3900 \pm 1400 \text{ g}$) não diferiram estatisticamente.

Tabela 2. Descrição das variáveis físicas e químicas da qualidade de água do cultivo intensivo de *L. vannamei* em densidade de 100 camarões m^{-3} nos distintos tratamentos.

Parâmetro	TRATAMENTO		ANOVA		
	Probióticos	Controle	T	S	TxS
pH	7.9 ± 0.4 (7.4-9.2)	7.9 ± 0.4 (7.3-9.1)	ns	*	ns
Alcalinidade (mg L^{-1})	147.0 ± 17.7 (100.0-200.0)	143.9 ± 15.8 (108.0-188.0)	ns	*	ns
Amônia Total N (mg L^{-1})	2.7 ± 2.4 (0.0-8.4)	2.5 ± 2.3 (0.1-8.4)	ns	*	ns
Nitrito ($\text{mg N-NO}_2^{-} \text{ L}^{-1}$)	1.7 ± 2.9 (0.0-12.2)	2.2 ± 3.8 (0.0-14.5)	ns	*	ns
Sólidos Suspensos Totais (mg L^{-1})	305.1 ± 81.0 (163.0-537.0)	284.7 ± 68.5 (160.0-428.0)	ns	*	ns
Sólidos Voláteis (mg L^{-1})	113.4 ± 40.6 (58.0-216.0)	105.5 ± 38.5 (32.0-188.0)	ns	*	ns
Ortofosfato ($\text{mg P-PO}_4^{-3} \text{ L}^{-1}$)	1.0 ± 0.6 (0.0-2.4)	0.8 ± 0.5 (0.2-2.6)	ns	*	ns
Nitrato ($\text{mg N-NO}_3^{-} \text{ L}^{-1}$)	7.1 ± 10.4 (1.2-43.0)	8.4 ± 13.7 (1.2-53.2)	ns	*	ns
Clorofila α ($\mu\text{g L}^{-1}$)	28.5 ± 28.3 (0.0-104.8)	33.5 ± 25.7 (0.0-8.0)	ns	ns	ns
Disco Secchi (cm)	30.2 ± 11.1 (14.0-68.0)	34.1 ± 16.0 (10.0-72.0)	ns	ns	ns

*T: Tratamento; S: Semana; TxS: Interação tratamento e semana. **ns: não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

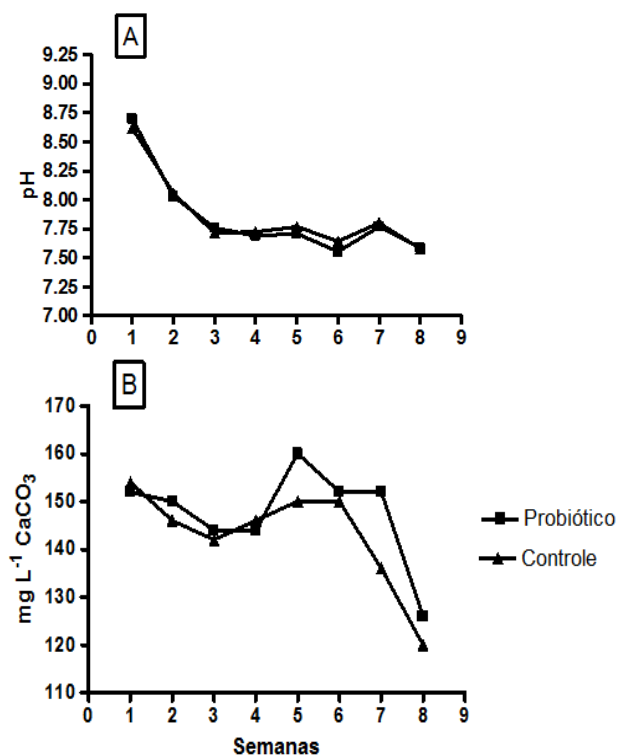


Figura 1. Variação do pH (A) e alcalinidade(B) da água do cultivo intensivo de *L. vannamei* em densidade de 100 camarões m⁻³ nos distintos tratamentos.

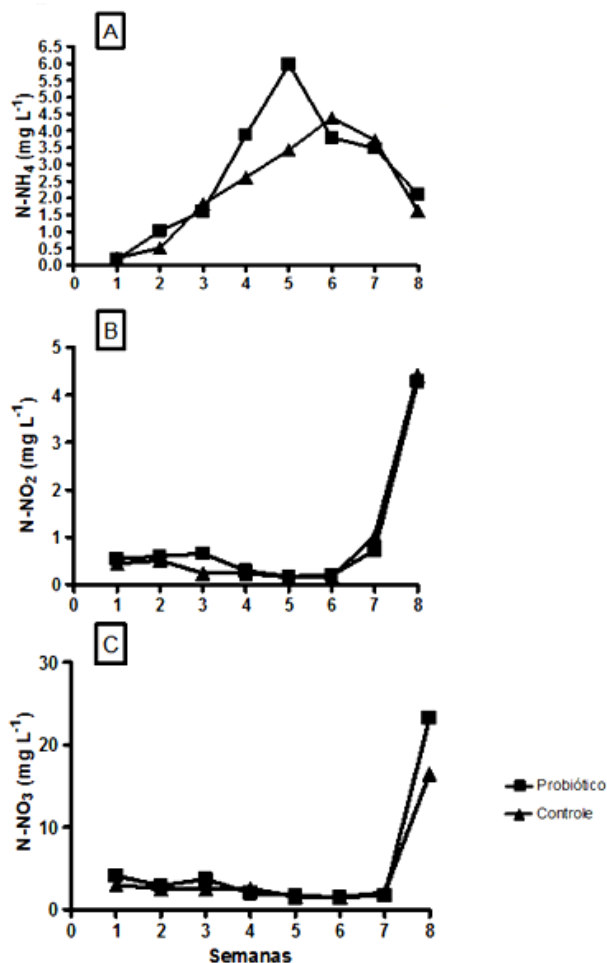


Figura 2. Variação da amônia total (A), nitrito (B), nitrato (C) da água do cultivo intensivo de *L. vannamei* em densidade de 100 camarões m^{-3} nos distintos tratamentos.

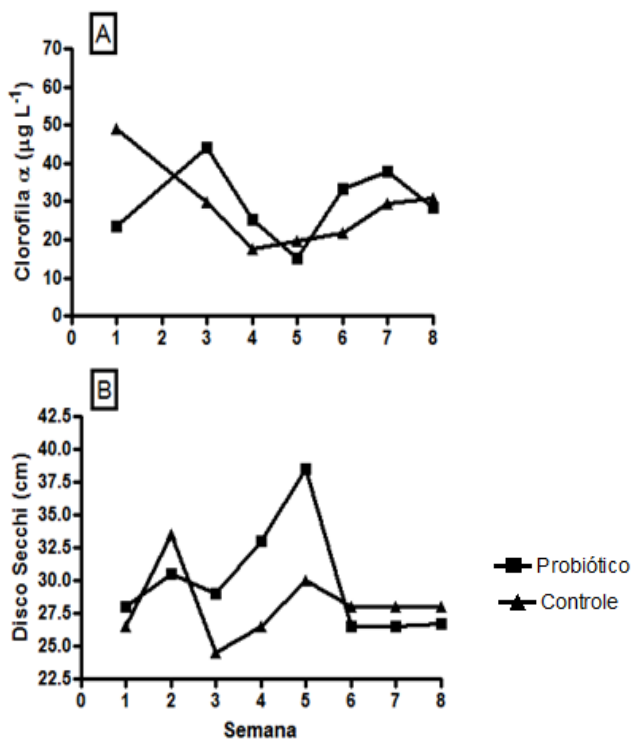


Figura 3. Variação da Clorofila α (A) e Disco de Secchi (B) da água do cultivo intensivo de *L. vannamei* em densidade de 100 camarões m^{-3} nos distintos tratamentos.

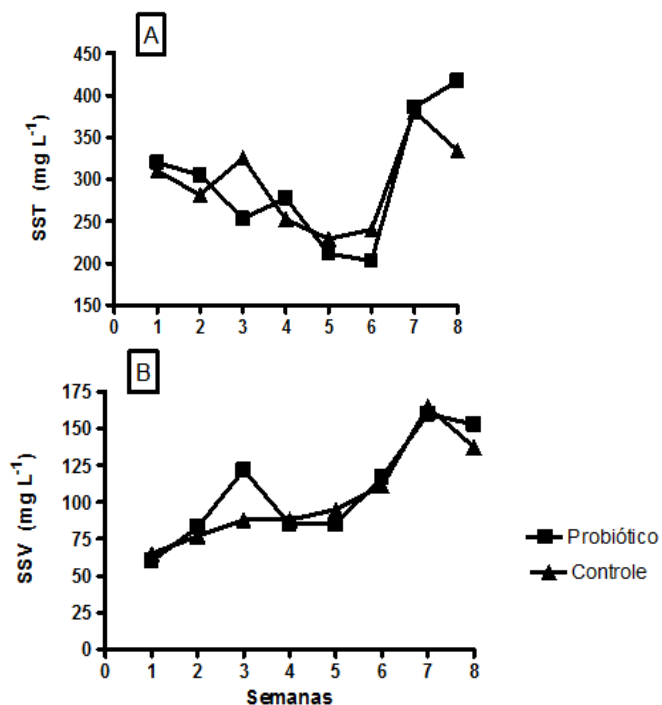


Figura 4. Variação dos sólidos suspensos totais (A) e sólidos suspensos voláteis (B) da água do cultivo intensivo de *L. vannamei* em densidade de 100 camarões m^{-3} nos distintos tratamentos.

Índices produtivos

Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) para nenhum índice produtivo analisado. Os dados do desempenho zootécnico do camarão estão apresentados na Tabela 3. E.

Tabela 3. Variáveis dos índices produtivo do *L. vannamei* cultivado com probiótico comercial (*Bacillus* spp.) suplementado na ração e como aditivo na água, durante o período experimental. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre si pelo teste T ($p>0,05$).

Parâmetro	Tratamento	
	Probiótico	Controle
Peso médio final (g)	8.7±1.3 ^a	9.7±0.5 ^a
Ganho peso semanal (g semana ⁻¹)	1.0±0,2 ^a	1.1±0.1 ^a
Biomassa final (kg m ⁻³)	769.6±114.7 ^a	856.4±49.4 ^a
Sobrevivência (%)	88.5±3.4 ^a	88.2±7.8 ^a
Fator de conversão alimentar	1.6±0.3 ^a	1.4±0.1 ^a

Análise microbiológica do trato digestivo, água do cultivo, ração e produtos

As análises realizadas na água demonstram que as médias da contagem de *Vibrios* spp e a contagem de bactérias heterotróficas totais viáveis não diferiram em ambos os tratamentos (Figura 5).

Não foi encontrada diferença ($p>0,05$) para concentrações de bactérias heterotróficas totais e *Vibrio* spp. no trato digestivo dos camarões entre o tratamento e controle (Figura 6).

A concentração de *Bacillus* spp. presente na ração e nos produtos utilizado no experimento estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Médias das concentrações de *Bacillus* spp. analisado e indicado pelo fabricante.

	Concentração (UFC g ⁻¹)	
	Fabricante	Análise <i>Bacillus</i> spp.
Probiótico da Água	5,0 × 10 ¹⁰	4,0 × 10 ¹¹
Probiótico da Ração	1,0 × 10 ¹¹	4,0 × 10 ¹³
Ração + Probiótico	3,3 × 10 ⁷	3,0 × 10 ⁸
Ração controle		5,0 × 10 ⁵

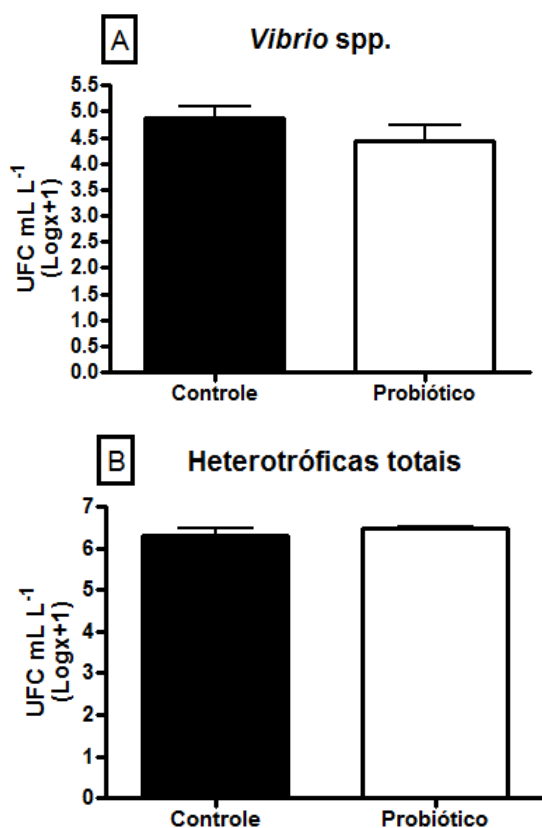


Figura 5. Médias das concentrações de *Vibrio* spp. (A) e Bactérias Heterotróficas Totais (B) na água do cultivo de *L. vannamei* fertilizada com probiótico comercial (*Bacillus* spp.) nos distintos tratamentos.

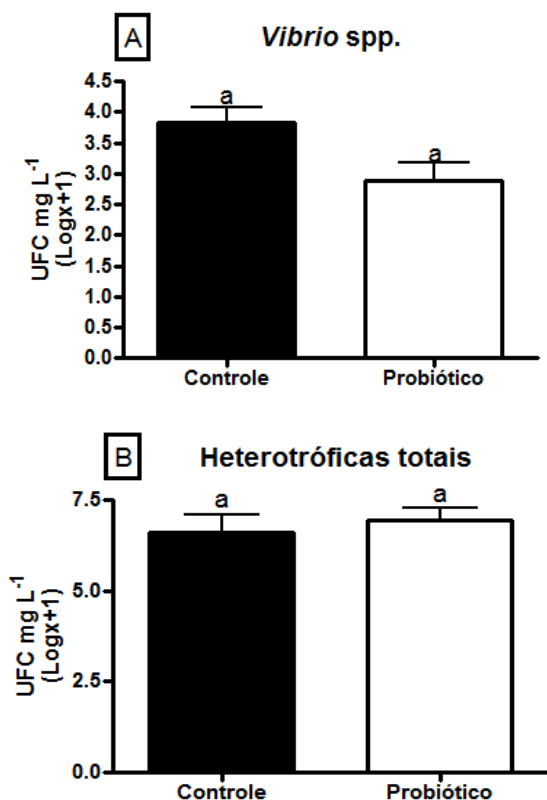


Figura 6. Concentrações de *Vibrio* spp. (A) e Bactérias Heterotróficas Totais (B) no trato digestivo do *L. vannamei* alimentados com dieta suplementada com probiótico comercial (*Bacillus* spp.) nos distintos tratamentos. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa para teste de Tukey ($P < 0.05$).

Discussão

Variáveis de qualidade de água

Os resultados obtidos quanto às variáveis temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade da água, estiveram dentro dos níveis recomendados para o cultivo do *L. vannamei* (VAN WYK e SCARPA, 1999). Em ambos os tratamentos, não houve diferenças estatísticas nos parâmetros de qualidade de água monitorados. HOSTINS *et al.* (2017) utilizaram probiótico comercial na água do cultivo de *L. vannamei* e também não observaram diferenças nas variáveis de qualidade de água analisados.

A alcalinidade teve uma diminuição na semana 7 e 8, e aumento da concentração de nitrito no mesmo período, chegando a níveis acima do recomendado para o camarão ($>3.0 \text{ mg L}^{-1}$) (LIN e CHEN, 2001, 2003), sugerindo o começo do processo de nitrificação por bactérias quimioautotróficas no final do cultivo (EBELING *et al.*, 2006).

Durante o período experimental a amônia apresentou picos ($>1,0 \text{ mg L}^{-1}$) na 3ª semana, onde foi controlada com adição de açúcar ($23,3 \pm 0,2 \text{ kg}$) na água do cultivo do tratamento e controle. Amônia total atingiu o nível máximo de $8,4 \text{ mg L}^{-1}$, sendo que a amônia tóxica chegou a $0,47 \text{ mg L}^{-1}$ segundo cálculo Emerson *et al.* (1975), estando dentro do limite adequado para espécies ($>2,78 \text{ mg L}^{-1}$) (LIN e CHEN, 2001), portanto a amônia não atingiu nível letal ao desenvolvimento do camarão. O ortofosfato se manteve abaixo das concentrações comumente encontradas na aquicultura marinha ($1 \text{ a } 15 \text{ mg L}^{-1}$), porém, sem diferença entre tratamento e controle.

Diante desses resultados, podemos descrever que o experimento inicialmente teve características fotoautotróficas, segundo observado no comportamento da clorofila α e disco de secchi. Ao longo do cultivo o surgimento e predominância heterotróficos, através da utilização de carbono, favoreceram o aumento na biomassa de bactérias heterotróficas e flocos no sistema. E ao final do cultivo, foi possível observar o domínio quimioautotrófico evidente através do surgimento da nitrificação identificada através do incremento dos níveis de nitrito (HARGREAVES, 2006; EBELING *et al.*, 2006; AZIM e LITTLE, 2008; XU *et al.*, 2016).

Os Sólidos Suspensos Totais (SST) nesse experimento estiveram abaixo do limite máximo aceitável para espécie (800 mg L^{-1}) segundo Schweitzer *et al.* (2013b). Ao percurso do experimento quando os níveis

de SST apresentavam entre 400 e 600 mg L⁻¹, era utilizado o sedimentador para controlar os sólidos. Esta variável teve valor incrementado com os dias de cultivo como já observado para engorda de camarão (SCHVEITZER *et al.*, 2013a). A quantidade de lodo retirado no sistema do tratamento probiótico foi superior ao controle, porém sem diferença estatística. Portanto, o suplemento microbiano não promoveu o aumento na biodegradação dos sólidos suspensos. O biofloco foi determinante para a manutenção de sedimentos no sistema, pois neste sistema de cultivo, a microbiota predominante atua na degradação da matéria orgânica (AVNIMELECH, 2001; BURFORD *et al.*, 2004).

Índices produtivos

No presente estudo não foram encontradas diferenças estatísticas quanto aos índices produtivos do camarão entre o tratamento e controle. FERREIRA *et al.* (2015) também não observaram diferença na engorda de *L. vannamei* alimentado com suplementação probiótica *Bacillus* spp. ($1,15 \times 10^4$ UFC g⁻¹). Ao contrário de SOUZA *et al.* (2011) utilizando probiótico comercial (*Bacillus* spp.) obtiveram maior peso final e taxa de crescimento nos tratamentos em relação ao controle no berçário de *L. vannamei*. Porém nesse estudo não foi possível constatar essas observações. LIU *et al.* (2009) usaram na ração de *L. vannamei* probiótico composto por *Bacillus subtilis* em distintas concentrações (10^6 , 10^7 , 10^8 UFC g⁻¹) e observou melhores taxas de crescimento no grupo tratado com 10^8 UFC g⁻¹.

No entanto, AGUILERA-RIVERA *et al.* (2014) diz que em condições de sistema fechado a antibiose pode ocorrer de forma natural. Os autores em estudo com uso de probiótico comercial (*B. subtilis*, *B. natto*, *B. megaterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei* e *Saccharomyces cerevisiae*) suplementados na ração (10^9 UFC g⁻¹) em sistema de BFT e água clara, observaram melhor sobrevivência nos sistemas tratados, porém os autores sugeriram que a dosagem utilizada não foi o suficiente para melhorar a taxa de crescimento dos camarões.

A eficácia do produto microbiano geralmente depende da duração da exposição, bem como do tipo e da forma dos probióticos (VERCHUERE *et al.*, 2000, FARZANFAR, 2006). Em estudo testando diferentes concentrações do uso de probiótico *Bacillus* spp. e bactérias fotossintéticas para *L. vannamei*, a suplementação de 10g de produto por kg de ração foi o suficiente para estimular o desempenho dos camarões (WANG *et al.*, 2007).

Além disso, o uso de probiótico no sistema BFT pode não resultar em efeito benéfico em juvenil de *L. vannamei*, uma vez que os próprios microrganismos presentes no bioflocos podem exercer um efeito positivo sobre as atividades enzimáticas digestivas do camarão (MOSS *et al.*, 2001; XU 2012; XU *et al.*, 2013)

Outro fator relevante é a susceptibilidade aos patógenos quando o animal é exposto a situações de estresse no ambiente de cultivo (RENGPIPAT *et al.*, 2000). Os resultados obtidos neste estudo que não diferiram entre o tratamento e o controle pode ser relacionado às condições ambientais e nutricionais mantidas adequadas durante o cultivo, no qual não proporcionou situações de estresse fisiológico aos camarões, corroborando com resultados obtido por Rego *et al.* (2012).

Contagem Microbiota

O uso de probiótico com várias espécies e cepas tem sido alvo de estudos por resultar em promissoras respostas imunológicas e resistência a doenças (NGUYEN *et al.*, 2014), inibição de patógenos (VASEEHARAN E RAMASAMY, 2003) e desempenho do camarão (LIU *et al.*, 2009; RENGPIPAT *et al.*, 2000; DECAMP, 2008).

Chiu *et al.* (2007) indicaram que o tratamento de juvenis de *L. vannamei* com *Lactobacillus plantarum* (10^7 e 10^{10} UFC g⁻¹) na ração, o tratamento 10^{10} UFC g⁻¹ apresentou um aumento na resposta imune e resistência à doença contra infecção com *Vibrio alginolyticus*. Em estudo com probiótico *Bacillus* OJ (10^8 e 10^{10} UFC g⁻¹) mostrou que a melhor dosagem dietética para resistência e imunidade de juvenis de camarão branco foi de 10^{10} UFC g⁻¹. Os autores indicaram que as doses eficazes de administração devem ser investigadas para cada bactéria probiótica (LI, TAN e MAI, 2009).

HOSTINS *et al.* (2017), inoculou na água do cultivo em BFT e água clara uma mistura de probiótico comercial composta por cepas de *B. subtilis* e *B. licheniformis* com concentração de $12,5 \times 10^5$ UFC L⁻¹ a cada 48 h, as bactérias eram ativadas de acordo com recomendações do fabricante, e os autores observaram menores concentrações de *Vibrio* spp. na água do cultivo com tratamento probiótico. Em estudo com a combinação de probiótico ($1,5 \times 10^8$ UFC L⁻¹ *Bacillus* spp.) e melaço, não foi observado o surgimento de agente patogênico até o final do cultivo intensivo (HU *et al.*, 2016). Em outro estudo, houve uma tendência a diminuição na contagem de *Vibrio* spp em sistema heterotrófico de camarão-marinho empregando o probiótico composto por *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* e *B. pumilus* (10^{10} UFC mL⁻¹) na

água, porém não deferiu do controle (CARVALHO *et al.*, 2010), corroborando com o presente estudo.

Em análise do efeito do uso de produtos microbianos comercial (produto 1: *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. blymyxe* e produto 2: *B. licheniformis*) no cultivo em alta densidade e sem troca de água do *L. vannamei*, não houve diferenças quanto aos parâmetros de qualidade de água, produção de lodo e rendimento dos camarões. Isto poderia ser atribuído à eficiência da flora microbiana natural do sistema heterotrófico (MCINTOSH, 2000). Efeitos semelhantes foram obtidos usando o mesmo probiótico em testes anteriores com *Penaeus setiferus* (SAMOCHA *et al.*, 1998a, b).

SHARIFF *et al.* (2001) indicaram que o uso *Bacillus* spp. e levedura *Saccharomyces* (3×10^8 UFC mL⁻¹) em cultivo de *Penaeus monodon* é ineficaz na manutenção do ambiente para o desenvolvimento dos animais. Os autores recomendaram uma maior dosagem do produto, porém relacionam inviabilidade econômica nessa gestão.

Esses resultados, onde os produtos microbianos aplicados no cultivo não apresentaram efeito sobre a contagem de vibrionáceas podem estar relacionados à produção natural de algumas substâncias por bactérias do bioflocos. Em estudo anterior, foi observada inibição sobre o crescimento de *Vibrio harveyi* (DEFOIRDT *et al.*, 2007).

Segundo RIQUELME *et al.* (2001) a formação do probiótico no intestino do hospedeiro é inteiramente relacionado à dosagem e ao tempo de ingestão. HOSTINS *et al.* (2017), inoculando *Bacillus* spp. a cada 2 dias no cultivo, observaram diferença na densidade bacteriana no trato intestinal dos animais e na água em relação ao controle. No presente estudo a dosagem e a aplicação semanal, pode ter sido insuficiente para inibição de *Vibrios* no ambiente de cultivo.

Por outro lado, as bactérias heterotróficas podem melhorar a qualidade de água e a resistência a doenças e, a presença controlada dessas comunidades influencia no desempenho zootécnico dos camarões cultivados (TACON *et al.*, 2002; WASIELESKY, 2006). No presente estudo a contagem de bactérias heterotróficas foi igual para tratamento e controle, podendo indicar que a colonização de bactérias heterotróficas tanto na água, quando no intestino, foi o suficiente para manter a qualidade da água e desenvolvimento dos camarões nos tratamentos, pois as bactérias no sistema heterotrófico podem exercer atividade antibiótica como observada em comunidades de vida selvagem (BIANCHI, 1979; FERREIRA *et al.*, 2015).

Conclusão

O uso combinado de *Bacillus* spp. como suplementação dietética e aplicado na água no cultivo intensivo de *L. vannamei*, não demonstrou serem eficazes na melhora da qualidade de água, desempenho zootécnico do camarão e concentração de *Vibrio* spp. no ambiente de cultivo e nas condições experimentais avaliadas.

Referências

AGUILERA-RIVERA, D. *et al.* 2014 Probiotic effect of FLOC on Vibrios in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 424-425:215-219.

AGUIRRE, G.; ASCENCIO, F. 2000 Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. *Resent Research Development in Microbiology*, v. 4, p. 333-348.

AKHTER, N.; WU, B.; MEMON, A. M.; MOHSIN, M. 2015 Probiotics and prebiotics associ. with aquaculture: A review. *Fish and Shellfish Immunology*.

ALAVANDI, S. V. *et al.* 2004 Evaluation of *Pseudomonas* sp PM 11 and *Vibrio fluvialis* PM 17 on immune indices of tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Fish & Shellfish Immunology*, 17(2): 115-120.

ALLAMEH, S. K. *et al.* Effects of dietary mono- and multiprobiotic strains on growth performance, gut bacteria and body composition of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). *Aquaculture Nutrition*, [s.l.], v. 22, n. 2, p.367-373, 2015.

APHA. 2005 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. In: (Ed.). *American Water Works Association and Water Pollution Control Association 21*. Washington, DC, USA.: American Public Health Association.

AVNIMELECH, Y. 1999 Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquacultur.*, 176:227-235.

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal dischargebio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264, pp. 140-147, 2007.

AVNIMELECH, Y.; RITVO LE MEIJER, G.; KOCHBA, M. 2001 Water content, organic carbon and bulk density in flooded sediments. *Aquacultural Engineering*, 25:25-33.

AZIM, M.E.; LITTLE D.C. 2008 The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283:29–35.

BACHÈRE, E. Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture*, v.191, p.3–11, 2000.

BALCÁZAR, J. L.; ROJAS-LUNA, T.; CUNNINGHAM, D. P. Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 96, n. 2, p. 147-150, Oct 2007.

BIANCHI, M.A.G. 1979 Polyphasic study of the microbial ecology of bacteria–phytoplankton interactions. Presented at: Aquatic Microbial Ecology: Proceedings of the Conference/Sponsored by the American Society of Microbiology. Clearwater Beach, FL.,USA.

BONDAD-REANTASO, M.G.; LOVELL, E.R.; ARTHUR, J.R.; HURWOOD, D.; MATHER, P.B. 2005 Pathogen and Ecological Risk Analysis for the Introduction of Blue Shrimp *Litopenaeus stylirostris* form Brunei Darussalam to Fiji SPC *Aquaculture Technical Papers. Secretariat of the Pacific Community, Aquaculture Section, Noumea Codex, New Caledonia*, August 2004, p. 80.

BOYD, C.E.; MCNEVIN, A. A. 2015 *Aquaculture, resource use, and the environment*. Wiley-Blackwell, Hoboken.

BRIGGS, M.; FUNGE-SMITH, S.; SUBASINGHE, R.P.; PHILLIPS, M. 2005 Introductions and movement of twopenaeid shrimp species in Asia and the Pacific. *FAO Fisheries Technical Paper*. p. 476.

BROWDY, C. L.; MOSS, S.M. 2005 Shrimp Culture Em Urban, Super-intensive Closed Systems. B.A. Costa Pierce (Ed.), *Aquacultura Urbana*, Blackwell Science, Oxford UK, p.173-186.

BURFORD, M.A.; LORENZEN, K. 2004 Modeling nitrogen dynamics in intensive shrimp ponds: the role of sediments remineralization. *Aquaculture*, 229(1–4):129-145.

CARVALHO, F. V. DE. 2011 *Berçário experimental de camarões marinhos em sistema heterotrófico com uso de probiótico: uso de probiótico no berçário de litopenaeus vannamei em sistema heterotrófico*. Pernambuco, Brasil. Recife. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco,

UFRPE). Disponível em:
<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/handle/tede2/6320> Acesso em: 24 Mai. 2017.

CHIU, C.H.; GUU, Y.K.; LIU, C.H.; PAN, T.M.; CHENG, W. 2007 Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*. *Fish & Shellfish Immunology*, 23:364-377.

CRAB, R.; LAMBERT, A.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. *J. Appl. Microbiol.*, 109, pp. 1643-1649, 2010.

DECAMP, O.; MORIARTY, D.J.W.; LAVENS, P. 2008 Probiotics for shrimp larviculture: review of field data from Asia and Latin America. *Aquaculture Research*, 39:334-338.

DEFOIRDT, T.; HALET, D.; VERVAEREN, H.; BOON, N.; VAN DE WIELE, T.; SORGELOOS, P.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. 2007 The bacterial storage compound poly- β -hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbelli*. *Environ. Microbiol.*, 9(2):445-452.

DEVARAJA, T. N.; YUSOFF, F.M.; SHARIFF, M. 2002 Changes in bacterial populations and shrimp production in pond treated with commercial microbial products. *Aquaculture*, 206:245-256.

EBELING, J.M.; TIMMONS, M.B.; BISOGNI J.J. 2006 Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257:346-358.

EMERENCIANO, M. *et al.* 2012 Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*, 43(3):447-457.

EMERSON, K.; RUSSO, R.C.; LUNDS, R.; THURSTON, R.V. 1975 Aqueous ammonia equilibrium calculations: effects of pH and temperature. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32:2379-2383.

FAO. 2013 Report of the FAO/MARD Technical Workshop on Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPND) of Cultured Shrimp (Under TCP/VIE/3304), 2013. Hanoi, Viet Nam, 25-27.

FAO. 2016 The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma, SOFIA.

FAR, H. Z., SAAD, C. R. B., DAUD, H. M., HARMIN, S. A. & SHAKIBAZADEH, S. 2009 Effect of *Bacillus subtilis* on the growth and survival rate of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *African Journal of Biotechnology*, 8:3369-3376.

FARZANFAR, A. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunol Med Microbiol* 48:149–158, 2006.

FERREIRA, G. *et al.* 2015 Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 448:273-279.

FULLER, R. 1992 History and development of probiotics. In: Fuller, R. Ed. *Probiotics: the Scientific Basis*. Chapman & Hall, New York. p. 1-8.

GATESOUPÉ, F. J. 1999 The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180(1-2):147-165.

GATESOUPÉ, F.-J. 2008 Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 14:107-114.

GOMEZ-GIL, B; A ROQUE; VELASCO-BLANCO, G. Culture of *Vibrio alginolyticus* C7b, a potential probiotic bacterium, with the microalga *Chaetoceros muelleri*. *Aquaculture*, 211(1-4):43-48, ago. 2002.

GULLIAN, M., THOMPSON, F. & RODRIGUEZ, J. 2004 Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 233:1-14.

HARGREAVES J.A. 2006 Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 34:344–363.

HOSTINS, BÁRBARA *et al.* 2017 Efficacy and variations in bacterial density in the gut of *Litopenaeus vannamei* reared in a BFT system and in clear water supplemented with a commercial probiotic mixture. *Aquaculture*, (480):58-64.

HU, X., CAO, Y., WEN, G., ZHANG, X., XU, Y., XU, W., XU, Y. AND LI, Z. 2016 Effect of combined use of *Bacillus* and molasses on microbial communities in shrimp cultural enclosure systems. *Aquaculture Research*, 48: 2691–2705.

- KARUNASAGAR, I. *et al.* 1994 Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128(3-4)203-209.
- KESARCODI-WATSON, A. *et al.* Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, v. 274, n. 1, p. 1-14, Jan 31 2008.
- KUMAR, V.; ROY, S.; MEENA, D.K.; SARKAR, U.K. Application of probiotics in shrimp aquaculture: importance, mechanisms of action, and methods of administration. *Rev. Fish. Sci. Aquacult.*, 24 (4), pp. 342-368, 2016.
- LAVILLA-PITOGO, C. R.; LEAÑO, E. M.; PANER, M. G. 1998 Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. *Aquaculture*, v. 164, n. 1-4, p. 337-349.
- LI, J.; TAN, B.; MAI, K. 2009 Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 291(1-2):35-40.
- LIGHTNER D.; CHEN S. N.; FLEGEL T.; WALKER P. 2006 Cultured Aquatic Species Information Programme (*Penaeus vannamei*). http://www.fao.org/fishery/cultured-species/Litopenaeus_vannamei/en.
- LIGHTNER, D. V. *et al.* 2012a Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 110 (2), p. 174-183.
- LIGHTNER, D. V. *et al.* 2012b Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. *Global Aquaculture Advocate Magazine*, Jan-Feb, p. 40, 2012b..
- LIGHTNER, D.V. 1996 *Diseases of penaeid shrimp*, p.393-486, in McVey, J. P. (ed.), *Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture*, CRC Press, Boca Raton.
- LIGHTNER, D.V. 2005 Biosecurity in shrimp farming: pathogen exclusion through use of SPF stock and routine surveillance. *J World Aquacult Soc*, 36:229–248
- LIN, H. Z., GUO, Z. X., YANG, Y. Y., ZHENG, W. H. & LI, Z. J. J. 2004 Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of

LIN, Y.-C.; CHEN J.-C. 2001 Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259:109-119.

LIU, C.-H. *et al.* 2009 Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. *Journal Of Applied Microbiology*, 107(3):1031-1041.

LIU, KUAN-FU *et al.* 2010 Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(5-6)-837-844.

LUIS-VILLASENOR, I. E.; CASTELLANOS-CERVANTES, T.; GOMEZ-GIL, B.; CARRILLO-GARCIA, A. E.; CAMPA-CORDOVA, A. *et al.* Probiotics in the intestinal tract of juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*: modulation of the bacterial community *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 29 (2013), pp. 257-265, 2013.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. 2000 Brock biology of microorganisms. Upper Saddle River, p. 991

MCINTOSH, D. 2000 The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 21(3):215-227.

MEUNPOL, O.; LOPINYOSIRI, K.; MENASVETA, P. 2003 The effects of ozone and probiotics on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 220:437-448.

MORIARTY, D.J.W. 1997 The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, 151:333-349.

MORIARTY, D.J.W. 1998 Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, v.164, p.351–358.

MOSS, S.; DIVAKARAN, S.; KIM B. 2001 Stimulating effects of pond water on digestive enzyme activity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquac. Res.*, 32(2):125–131.

NACA. 2012. Report of the Asia Pacific Emergency Regional Consultation on the Emerging Shrimp Disease: Early Mortality Syndrome (EMS)/acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS). Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific, Bangkok, Thailand, p. 13.

NGUYEN, VAN DUY et al. 2014 Screening of marine bacteria with bacteriocin-like activities and probiotic potential for ornate spiny lobster (*Panulirus ornatus*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 40(1):49-60.

NIMRAT, S.; BOONTHAI, T.; VUTHIPHANDCHAI, V. 2011 Effects of probiotic forms, compositions of and mode of probiotic administration on rearing of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and postlarvae. *Animal Feed Science And Technology*, 169(3-4):244-258.

OCHOA-SOLANO, J. L.; OLMOS-SOTO, J. 2006 The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. *Food Microbiology*, 23(6):519-525.

PASHARAWIPAS, T. et al. 2005 Partial characterization of a novel bacteriophage of *Vibrio harveyi* isolated from shrimp culture ponds in Thailand. *Virus Research*, 114(1-2):63-69.

RAY, A. J. et al. 2010 Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*, 299(1-4):89-98.

RAY, A. J.; DILLON, K. S.; LOTZ, J. M. 2011 Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. *Aquacultural Engineering*, 45(3):127-136.

REGO, M. et al. 2012 Utilização de probiótico e antibiótico no cultivo de pós-larvas do camarão branco *Litopenaeus vannamei*. *Atlântica*, 34(2):137-143.

RENGPIPAT, S., PHIANPHAK, W., PIYATIRATITIVORAKUL, S.; MENASVETA, P. 1998 Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167, 301-313.

RENGPIPAT, S.; RUKPRATANPORN, S.; PIYATIRATITIVORAKUL, S.; MENASAVETA, P. 2000 Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture*, 191:271-288.

RIQUELME C.E., JORQUERA M.A., ROJAS A.I., AVENDAÑO R.E., REYE S.N. Addition of inhibitor-producing bacteria to mass cultures of *Argopecten purpuratus* larvae (Lamarck, 1819). *Aquaculture*, 192 (2001), pp. 111-119

SAMOCHA, T.M.; LAWRENCE, A.L.; HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. 1998 The use of commercial probiotics in the production of marine shrimp

under no water exchange. *The Second International Conference on Recirculating Aquaculture*, Virginia Polytechnic Institute, p. 373–375.

SCHULZE, A.D.; ALABI, A.O.; TATTERSALL SHELDRAKE, A.R; MILLER, K.M. Bacterial diversity in a marine hatchery: balance between pathogenic and potentially probiotic bacterial strains. *Aquaculture*, v. 256, pp. 50-73 2006.

SCHVEITZER, R. *et al.* 2013a Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. *Aquacultural Engineering*, 54:93-103.

SCHVEITZER, R. *et al.* 2013b Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 56:59-70.

SHARIFF, M.; YUSOFF, F.M.; DEVARAJA, T.N. 2001 The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. *Aquac. Res.*, 32:181-187.

SILVA, E.F.; SOARES, M.A.; CALAZANS, N.F.; VOGLEY, J.L.; VALLE, B.C; SOARES, R.; PEIXOTO S. Effect of probiotic (*Bacillus* spp.) addition during larvae and postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Res.*, 44 (2013), pp. 13-21.

SOUZA, D. M. de *et al.* 2011 The use of probiotics during the nursery rearing of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a zero exchange system. *Aquaculture Research*, 43(12):1828-1837.

STRICKLAND, J. D.; PARSONS, T. R. 1972 A Practical Handbook of Seawater Analysis. Canada: Fish Research Board.

SUNG, H. H.; HSU S. F.; CHEN C. K.; TING, Y. Y. & CHAO, W. L. 2001 Relationships between disease outbreak in cultured Tiger shrimp (*Penaeus monodon*), and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopâncreas during cultivation. *Aquaculture*, 192:101-110.

TACON, A. G. J. *et al.* 2002 Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition*, 8(2):121-137.

VAN WYK, P.; SCARPA, J. *Water Quality and Management* P. Van Wyk, *et al.* (Eds.), Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater

Systems, Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee (1999), pp. 128-138

VASEEHARAN, B.; RAMASAMY, P. 2003 Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for blacktiger shrimp *Penaeus monodon*. *Letters in Applied Microbiology*, 36(2):83-87.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. 2000a Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Journal Microbiology Molecular Biology Reviews*, 64:655-671.

VIEIRA, F.N.; PEDROTTI, F.S.; BUGLIONE, C.C.; MOURINO, J.L.P.; BELTRAME, E.; MARTINS, M.L.; RAMIREZ C., VINATEA L.A. 2007 Lactic-acid bacteria increase the survival of marine shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after infection with *Vibrio harveyi*. *Braz. J. Oceanogr*, 55:251-255.

WANG, Y.-B. 2007 Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, v. 269, n. 1-4, p. 259-264.

WANG, Y.B., XU, Z.R. & XIA, M.S. 2005 The effectiveness of commercial probiotics in Northern White Shrimp (*Penaeus vannamei*) ponds. *Fisheries Science*, 71:1034–1039.

WASIELESKY W.; ATWOOD H.; STOKES A.; BROWDY C.L. 2006 Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258:396–403. White shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone. *Aquaculture Research*, (35):1441-1447.

WYK, V. P.; SCARPA, J. 1999 Water quality requirements and management. pp. 141–162. In: Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K.L., Scarpa, J. (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, FL, USA.

XU, W.J.; MORRIS, T.C; SAMOCHA T.M. 2016 Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture*, 453:169–175.

XU, W.J.; PAN, L.Q.; ZHAO, D.H.; HUANG J. 2012 Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei*

fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*, 350:147–153.

XU, W.J.; PAN, L.Q.; ZHAO, D.H.; HUANG J. 2013 Effects of bioflocs on water quality, and survival, growth and digestive enzyme activities of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in zero-water exchange culture tanks. *Aquac. Res.* 44(7):1093–1102.

ZHANG, L. *et al.* 2009 Effects of Dietary Administration of Probiotic Halomonas sp B12 on the Intestinal Microflora, Immunological Parameters, and Midgut Histological Structure of Shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(1):58-66.

ZHOU, XU-XIA; WANG, YAN-BO LI, WEI-FEN. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287(3-4):349-353, 2009.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Deste modo, estudos futuros com base na composição, periodicidade e dosagem podem permitir que o probiótico do estudo, pode melhorar o desempenho do *L. vannamei* e controle o surgimento de *Vibrios* spp. no cultivo intensivo.

4. REFERÊNCIAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ABRAHAM, T. J.; PALANIAPPAN, R. Distribution of luminous bacteria in semi-intensive penaeid shrimp hatcheries of Tamil Nadu, India. **Aquaculture**, v. 232, n. 1-4, p. 81-90, 2004.

AGUIRRE, G.; ASCENCIO, F. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. **Recent Research Development in Microbiology**, v. 4, p. 333-348, 2000.

ALLAMEH, S. K. et al. Effects of dietary mono- and multiprobiotic strains on growth performance, gut bacteria and body composition of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). **Aquaculture Nutrition**, [s.l.], v. 22, n. 2, p.367-373, 2015.

AUSTIN, B. et al. A Probiotic Strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. **Journal of Fish Diseases**, v. 18, n. 1, p. 93-96, 1995.

AVNIMELECH, Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal dischargebio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264 (2007), pp. 140-147.

BACHÈRE, E. Shrimp immunity and disease control. **Aquaculture**, v.191, p.3–11, 2000.

BALCÁZAR, J. L.; ROJAS-LUNA, T.; CUNNINGHAM, D. P. Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 96, n. 2, p. 147-150, Oct 2007.

BIAO, X.; ZHUHONG, D.; XIAORONG, W. Impact of the intensive shrimp farming on the water quality of the adjacent coastal creeks from Eastern China. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 48, pp. 543-553, 2004.

BONDAD-REANTASO, M.G.; LOVELL, E.R.; ARTHUR, J.R.; HURWOOD, D.; MATHER, P.B. Pathogen and Ecological Risk Analysis for the Introduction of Blue Shrimp *Litopenaeus stylirostris* form *Brunei Darussalam* to *Fiji* SPC **Aquaculture Technical Papers. Secretariat of the Pacific Community, Aquaculture Section, Noumea Codex, New Caledonia**, August 2004, p. 80, 2005.

BOYD, C.E. Guidelines for aquaculture effluents management at the farm-level. **Aquaculture**, 226, 101-112. 2003.

BOYD, C.E.; MC NEVIN, A. A. Aquaculture, resource use, and the environment. **Wiley-Blackwell, Hoboken**, 2015.

BROWDY, C.L.; MOSS, S.M. Shrimp Culture Em Urban, Super-intensive Closed Systems B.A. Costa Pierce (Ed.), Aquacultura Urbana, **Blackwell Science**, Oxford UK, pp. 173-186, 2005.

BURFORD, M.A.; LORENZEN, K. Modeling nitrogen dynamics in intensive shrimp ponds: the role of sediments remineralization. **Aquaculture**, 229 (1-4), pp. 129-145, 2004.

CARVALHO, R.A.P.L.F. **Desenvolvimento de um sistema de recirculação sobre estudos de digestibilidade em condições de alto desempenho para camarões marinhos: avaliação de ingredientes alternativos a farinha de peixe em diferentes níveis de inclusão em dietas para juvenis de *Litopenaeus vannamei***. Tese (Doutorado) Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (2011) (267 pp.) Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/21/21131/tde-12082011-153008/publico/RODRIGO_CARVALHO_TESE_FINAL.pdf Acesso em: (02 de junho)

CHAI, PENG-CHENG et al. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus* PC465 isolated from the gut of *Fenneropenaeus chinensis* improves the health status and resistance of *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome virus. **Fish & Shellfish Immunology**, [s.l.], v. 54, p.602-611, jul. 2016.

CHANG, C. I.; LIU, W. Y. An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 25, n. 5, p. 311-315, 2002.

CHIU, C.H., GUU, Y.K., LIU, C.H., PAN, T.M., CHENG, W. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*. **Fish & Shellfish Immunology**, 23, 364-377, 2007.

CRAB, R.; LAMBERT, A.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. **J. Appl. Microbiol.**, 109, pp. 1643-1649, 2010.

DECAMP, O., CONQUEST, L. FORSTER, I. TACON, A. G. J. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: roles of eukaryotic microorganisms. Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound a 23 aquaculture production systems. Lee, C.S., and O'Bryen, P editors. **World aquaculture society**, baton Rouge, Louisiana, United States, 2002.

DECAMP, O.; MORIARTY, D.J.W.; LAVENS, P. Probiotics for shrimp larviculture: review of field data from Asia and Latin America. **Aquac Res**, 39, pp. 334–338, 2008.

DEVARAJA, T. N.; YUSOFF, F.M.; SHARIFF, M. Changes in bacterial populations and shrimp production in pond treated with commercial microbial products. **Aquaculture**, 206:245-256, 2002.

EL-SERSY, N.A.; ABDELRAZEK, F.A.; TAHA, S.M. Evaluation of various probiotic bacteria for the survival of *Penaeus japonicus* larvae. **Fresenius Environmental Bulletin**, v.15, n.12A, p.1506-1511, 2006.

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations) (2016) **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma, SOFIA.

FAR, H. Z., SAAD, C. R. B., DAUD, H. M., HARMIN, S. A. & SHAKIBAZADEH, S. Effect of *Bacillus subtilis* on the growth and survival rate of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *African Journal of Biotechnology*, 8:3369-3376, 2009.

FARZANFAR, A. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunol Med Microbiol*48:149–158, 2006.

GATESOUPÉ, F. J. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture**. 180(1-2):147-165, 1999.

GOARANT, C. et al. "Summer Syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia: Pathology and epidemiology of the etiological agent, *Vibrio nigripulchritudo*. **Aquaculture**, v. 253, n. 1-4, p. 105-113, Mar31, 2006.

GRAM, L. et al. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 969-973, Mar 1999.

GULLIAN, M., THOMPSON, F. & RODRIGUEZ, J. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 233:1-14, 2004.

HSIEH, S.L.; RUAN, Y.H.; LI, Y.C.; HSIEH, P.S.; HU, C.H.; KUO, C.M. Immune and physiological responses in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) to *Vibrio alginolyticus*. **Aquaculture**, 275, pp. 335-341, 2007.

HUISINTVELD, J.H.J.; MULDER, R.; SNIJDERS, J.M.A. Impacto f animal husbandry and slaughter Technologies on microbial contamination of meat – monitoring and control. **Meat Sci.** 36, 123-154, 1994.

JATOBÁ A, et al. Utilização de bactérias ácido-láticas isoladas do trato intestinal de tilapia do Nilo como probiótico. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, 1201-1207, 2008.

JORY, D.E. Feed management practices for a healthy pond environment. C.L. C.L. Browdy, DE Jory (Eds.), The New Wave, **Procedimentos da Sessão Especial sobre Cultura Sustentável de Camarão, Aquacultura 2001**, The World Aquaculture Society, Baton Rouge, EUA, pp. 118-143, 2001.

KESARCODI-WATSON, A. et al. Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. **Aquaculture**, v. 274, n. 1, p. 1-14, Jan 31 2008.

KUMAR, V.; ROY, S.; MEENA, D.K.; SARKAR, U.K. Application of probiotics in shrimp aquaculture: importance, mechanisms of action, and methods of administration. **Rev. Fish. Sci. Aquacult.**, 24 (4), pp. 342-368, 2016.

LAVILLA-PITOGO, C. R.; LEAÑO, E. M.; PANER, M. G. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. **Aquaculture**, v. 164, n. 1-4, p. 337-349, 1998.

LI, J.; TAN, B.; MAI, K. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, 291(1-2):35-40, 2009.

LI, K.; ZHENG, T.; TIAN, Y.; , XI, F.; YUAN, J.; ZHANG, G.; HONG, H. Efeitos benéficos de *Bacillus licheniformis* na microflora intestinal e imunidade do camarão branco, *Litopenaeus vannamei* *Biotechnol. Lett.* , 29, pp. 525 – 530, 2007.

LIGHTNER D.; CHEN S. N.; FLEGEL T.; WALKER P. Cultured Aquatic Species Information Programe (*Penaeus vannamei*). http://www.fao.org/fishery/cultured-species/Litopenaeus_vannamei/en, 2006.

LIGHTNER, D. V. et al. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. **Global Aquaculture Advocate Magazine**, Jan-Feb, p. 40, 2012b..

LIGHTNER, D. V. et al. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110 (2), p. 174-183, 2012a

LIU, C. H.; CHIU, C. S.; HO, P. L.; WANG, S. W. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. **Journal of Applied Microbiology**, v.107, p.1031-1041, 2009.

LOTZ, J. M. LIGHTNER, D. V. Shrimp biosecurity: pathogens and pathogen exclusion R.A. Bullis, G.D. Pruder (Eds.), Controlled and Biosecure Production Systems, Preliminary Proceedings of a Special Integration of Shrimp and Chicken Models, 27–30th April, **World Aquaculture Society**, Sydney, Australia, pp. 70-72, 1999.

LUIS-VILLASENOR, I. E.; CASTELLANOS-CERVANTES, T.; GOMEZ-GIL, B.; CARRILLO-GARCIA, A. E.; CAMPA-CORDOVA, A. et al. Probiotics in the intestinal tract of juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*: modulation of the bacterial community **World J. Microbiol. Biotechnol.**, 29 (2013), pp. 257-265, 2013.

MCINTOSH, D. The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. **Aquacultural Engineering**, [s.l.], v. 21, n. 3, p.215-227, jan. 2000.

MCINTOSH,D.; SAMOCHA, T.M. JONES, A.L. LAWRENCE, S. HOROWITZ, A. HOROWITZ. Effects of two commercially available low-protein diets (21% and 31%) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei* in an outdoor tank system with limited water discharge. **Aquac. Eng.**, 25, pp. 69-82, 2001.

MORIARTY, D. J. W. The role of microorganisms in aquaculture ponds. **Aquaculture**, v. 151, n. 1-4, p. 333-349, 1997.

MORIARTY, D.J.W.; Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. **Aquaculture**, v.164, p.351–358, 1998.

MOSS, S.M. Dietary importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. In: C.S. Lee and P. O'Bryen, Editors, *Microbial Approaches to*

Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems, **World Aquaculture Society**., Baton Rouge, Louisiana:1–18, 2002.

MOSS, S.M. REYNOLDS, W.J. MAHLER, L.E. Design and economic analysis of a prototype biosecure shrimp growout facility S.M. Moss (Ed.), **Proceedings of the US Marine Shrimp Farming Program—Biosecurity Workshop**, 14th February, The Oceanic Institute, Hawaii, USA (1998), pp. 5-14, 1998.

NAYLOR RL et al. Effect of aquaculture on world fish supplies. **Nature**, v. 405, p. 1017-1024. 2000.

NHAN, D.T.; WILLE, M.; DE SCHRYVER, P.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; SORGELOOS, P. The effect of poly β -hydroxybutyrate on larviculture of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, v. 302, pp. 76-81, 2010.

NIKOSKELAINEN, S. et al. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. **Aquaculture**, v. 198, n. 3-4, p. 229-236, Jul 2 2001.

NIMRAT, SUBUNTITH; BOONTHAI, TRAIMAT; VUTHIPHANDCHAI, VERAPONG. Effects of probiotic forms, compositions of and mode of probiotic administration on rearing of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and postlarvae. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 169, n. 3-4, p.244-258, nov. 2011.

PASHARAWIPAS, T. et al. Partial characterization of a novel bacteriophage of *Vibrio harveyi* isolated from shrimp culture ponds in Thailand. **Virus Research**, v. 114, n. 1-2, p. 63-69, Dec 2005.

RENGPIPAT, S. et al. Effect of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. **Aquaculture**, v. 167, p. 301-313, 1998a.

SAMOCHA, T.M.; PATNAIK, S.; SPEED, M.; ALI, A.; BURGER, J.M.; ALMEIDA, R. V.; AYUB, Z.; HARISANTO, M.; HOROWITZ, A.; BROCK, D.L. Use of molasses as source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. **Aquacultural Engineering**. V. 36, p. 184-1991, 2007.

SAMOCHA, T.M.; LAWRENCE, A.L.; HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. The use of commercial probiotics in the production of marine shrimp under no water

exchange. **The Second International Conference on Recirculating Aquaculture**, July 1998, Virginia Polytechnic Institute, pp. 373–375, 1998.

SANTOS, ELAINE Cristina Batista. **Desempenho produtivo do camarão cinza *Litopenaeus vannamei*, utilizando técnicas de povoamento direto e indireto**. 47 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Pesqueiros, Recife, 2009.

SAPCHAROEN, P.; RENGPIPAT, S. Effects of the probiotic *Bacillus subtilis* (BP11 and BS11) on the growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquac. Nutr.**, v. 19, p. 946-954, 2013.

SCHULZE, A.D.; ALABI, A.O.; TATTERSAL SHELDRAKE, A.R; MILLER, K.M. Bacterial diversity in a marine hatchery: balance between pathogenic and potentially probiotic bacterial strains. **Aquaculture**, v. 256, pp. 50-73 2006.

SILVA, Emanuell Felipe et al. Effect of probiotic (*Bacillus* spp.) addition during larvae and postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, [s.l.], v. 44, n. 1, p.13-21, 20 out. 2011.

SONG, Y.-L.; CHENG, W.; WANG, C.-H. Isolation and characterization of *Vibrio damsela* infectious for cultured shrimp in Taiwan. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 61, n. 1, p. 24-31, 1993.

SUNG, H.-H. et al. Changes in the composition of *Vibrio* communities in pond water during tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultivation and in the hepatopancreas of healthy and diseased shrimp. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 236, n. 2, p. 261-271, 1999.

SZE, C.P. Antibiotics use in aquaculture. *Infofish Int.*, v. 19, pp. 24-28, 2000.

TACON, A.G.J.; CODY, J.J.; CONQUEST, L.D.; DIVAKARAN, S.; FORSTER, I.P.; DECAMP, O.E. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquac. Nutr.**, v. 8, pp. 121-137, 2002.

TRAN, L.; NUNAN, L.; REDMAN, R.M.; Mohnney, L.L.; Pantoja, C.R.; Fitzsimmons, K.; Lightner, D.V. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. **Dis. Aquat. Org.**, v. 105, pp. 45-55, 2013.

VANDENBERGHE, J. et al. Vibrios associated with *Penaeus chinensis* (Crustacea : Decapoda) larvae in Chinese shrimp hatcheries. **Aquaculture**, v. 169, n. 1-2, p. 121-132, Nov 1998.

VASEEHARAN, B.; RAMASAMY, P. Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for Blacktiger shrimp *Penaeus monodon*. **Letters in Applied Microbiology**, v.36, n. 2, p. 83-87, 2003.

VERSCHUERER, L. et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 4, p. 655, Dec 2000.

VIEIRA, F. D. et al. Time-related action of *Lactobacillus plantarum* in the bacterial microbiota of shrimp digestive tract and its action as immunostimulant. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, n. 6, p. 763-769, Jun 2008.

VINE, N.G.; LEUKES, W.D.; KAISER, H. Probiotics in marine larviculture. **FEMS Microbiol. Rev.**, 30, pp. 404-427, 2006.

VITA, Gustavo Queiroz Lima. **Utilização de probióticos no cultivo super-intensivo do camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) em um sistema sem renovação de água**. 2008. 34f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

WANG, Y.-B. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 269, n. 1-4, p. 259-264, 2007.

WASIELESKY, W.; ATWOOD, H.; STOKES, A.; BROWDY, C.L. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 258, pp. 396-408, 2006.

ZHOU, XU-XIA; WANG, YAN-BO LI, WEI-FEN. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. **Aquaculture**, [s.l.], v. 287, n. 3-4, p.349-353, fev. 2009.

ZIAEI-NEJAD, S.; REZAEI, M.H.; TAKAMI, G.A.; LOVETT, D.L.; MIRVAGHEFI, A.R.; SHAKOURI, M. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp, *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture**, 252, pp. 516-524, 2006.